



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

EFFECTO DE HONGOS NEMATÓFAGOS SOBRE LA DISPONIBILIDAD DE NUTRIMENTOS EN EL SUELO

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

DINORAH LISSETTE LIMA RIVERA

COMITÉ DE TUTORES

DRA. ALMA S. VELÁZQUEZ RODRÍGUEZ

DRA. GLORIA LUZ L. CARRIÓN VILLARNOVO

DRA. PETRA SÁNCHEZ NAVA

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Septiembre 2014

Resumen

Lima-Rivera D.L. (2014) Efecto de hongos nematófagos sobre la disponibilidad de nutrimentos en el suelo. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México, 83 p.

En el presente estudio se evaluó la capacidad *in vitro* de los hongos *Geomyces pannorum*, *Paecilomyces carneus* y *Penicillium virgatum* aislados del nematodo fitoparásito *Globodera rostochiensis* para solubilizar fosfatos de calcio y hierro. En medio sólido, se calculó el índice de solubilización y en medio líquido se cuantificó porcentaje de fósforo solubilizado por los hongos. Asimismo se evaluó el porcentaje de germinación, la velocidad de crecimiento y las interacciones entre los tres hongos. Posteriormente se eligieron a *G. pannorum* y *P. carneus* para evaluar en invernadero su capacidad para solubilizar fosfatos directamente en el suelo, el efecto de éstos sobre el crecimiento de plantas de *Avena sativa* y la población de nematodos presente en el suelo. Los tres hongos mostraron capacidad para solubilizar fosfatos en medio sólido y líquido con fosfato de calcio, donde liberaron entre el 67 y 96% del fósforo insoluble presente en el medio 18 días después de la inoculación. En el medio sólido con fosfato de hierro únicamente *G. pannorum* y *P. carneus* mostraron capacidad de solubilizar, sin embargo en el medio líquido los tres aislamientos solubilizaban entre el 2 y 13% de fosfato presente en el medio. *G. pannorum* y *P. carneus* mostraron alta capacidad de germinación mientras que *P. virgatum* mostró un reducido porcentaje de germinación. Asimismo, se encontró que el micelio tanto de *G. pannorum* como de *P. carneus* pueden ejercer inhibición hacia *P. virgatum*. En los experimentos en invernadero, con la aplicación de *G. pannorum* y *P. carneus* el fósforo disponible en el suelo aumentó hasta 35% y 47% respectivamente. Las plantas tratadas con *P. carneus* tuvieron más semillas que las tratadas con *G. pannorum* y el Testigo. Asimismo *P. carneus* redujo la población de nematodos en el suelo en un 71%. Este estudio muestra por primera vez la acción solubilizadora de fosfatos *in vitro* de *G. pannorum* y *P. virgatum* y, la capacidad de *P. carneus* para aumentar el nivel de fósforo disponible en el suelo y mejorar el rendimiento de las plantas.

Abstract

Lima-Rivera DL (2014) Effect of the nematophagous fungi on the soil availability nutrients. Master's Thesis, Universidad Autónoma del Estado de México, 83 p.

In this study was evaluated the *in vitro* ability of the fungi *Geomyces pannorum*, *Paecilomyces carneus* and *Penicillium virgatum* isolated from plant parasitic nematode *Globodera rostochiensis*, for solubilize calcium and iron phosphates. In solid medium, the solubilization index was calculated, also the phosphorus solubilized by fungi in liquid medium was quantified. Germination percentage, growth rate and interactions between the three fungi were also assessed. Subsequently were selected *G. pannorum* and *P. carneus* for evaluate in greenhouse experiments, their ability to solubilize phosphorus directly in the soil, their effect on the growth of *Avena sativa* plants and the nematode population in the soil. The three fungi showed phosphate solubilization capacity in the solid and liquid medium with calcium phosphate, where they released between 67% and 96% of the insoluble phosphorus present in the medium 18 days after inoculation. In solid medium with iron phosphate, only *G. pannorum* and *P. carneus* showed capacity of solubilization, nevertheless the three isolations solubilized between 2 and 13% of phosphate present in the liquid medium. *G. pannorum* and *P. carneus* showed high germination percentage, while *P. virgatum* showed a low germination percentage. Also was found that *P. virgatum* mycelium can be inhibited by *G. pannorum* and *P. carneus*. In the greenhouse experiments, the available soil phosphorus was increased up to 35% and 47% with the application of *G. pannorum* and *P. carneus* respectively. Further, the plants with *P. carneus* application produced more seeds than *G. pannorum* and Control plants. In addition, the phytoparasitic nematode population density in the soil was reduced up to 71% with the *P. carneus* application. This work showed for the first time the action of *G. pannorum* and *P. virgatum* for the *in vitro* phosphate solubilized and the capacity of *P. carneus* for increased the available phosphorus in the soil and improve the plants yield.

Dedicatoria

A mi hijo Eduardo por quien cada día tiene sentido mi vida, mil gracias porque muchas cosas de mi cambiaron con tu llegada. Ilusiones trajiste a mi vida y junto con ellas la dicha para mí de saber el significado de la palabra "MAMA".

A mi esposo Daniel por estar conmigo en todo momento, por tu sonrisa que calma mi cansancio, por tus brazos que me consuelan cuando siento que todo va mal. Compartir mi vida contigo es una de las mejores decisiones que he tomado en mi vida.

Los amo.

Agradecimientos

A mis padres María y Casto. Se que no existe una forma de agradecer una vida de sacrificio y esfuerzo, por su cariño y apoyo moral sin condiciones, gracias al cual logré concluir otra etapa de mi formación como profesionista, que es para mí la mejor de las herencias y sobre todo por ser mis mejores compañeros y amigos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca (238333/350769) otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en la Universidad Autónoma del Estado de México.

A la Dra. Gloria Carrión Villarnovo por apoyarme en la investigación y en la formación de este trabajo, la paciencia, dedicación, enseñanza, la amistad brindada y sobre todo por ser una confidente y una buena consejera.

A la Dra. Alma S. Velázquez Rodríguez por la confianza que depositó en mí, por apoyarme dentro de esta etapa de mi formación, por los conocimientos brindados, por su paciencia y aportaciones a este trabajo, por prestarme sus valioso libros y sobre todo por brindarme tan linda amistad.

A la Dra. Petra Sánchez Nava por formar parte de este proyecto, por las sugerencias durante los tutoriales, por permitirme trabajar en sus laboratorios durante mi estancia en Toluca y sobre todo por su amistad y consejos.

Al M. en C. Ángel Enrique Núñez Sánchez por apoyarme ciegamente en todo momento, la amistad brindada y las enseñanzas que aun estando fuera de su aula me sigue dando día a día, por escucharme en los momentos de debilidad, por formar parte de mi formación y por su apoyo en este trabajo.

Al M. en C. Daniel López Lima, por su infinito apoyo, confianza y aportaciones al trabajo, por hacer amenas las largas horas en el laboratorio, por ser una amigo, confidente y cómplice.

A la Bióloga Magda Gómez Columna por su apoyo en las diversas actividades llevadas a cabo en el Laboratorio de Biodiversidad y Sistemática del Instituto de Ecología, A.C. Además le agradezco por darme ánimos en todo momento, confiar en mí y sobre todo por la amistad brindada durante estos años.

A las químicas Ariadna Martínez Virúes y Daniela Cela Cadena, por el apoyo en la cuantificación del fósforo disponible en el laboratorio de Ecología Funcional del Instituto de Ecología, A.C. Les agradezco también por la paciencia y dedicación, así como la

confianza depositada en mí y sobre todo por hacerme sentir que en ellas encuentro una amiga a todas horas.

A las técnicas del Laboratorio de Análisis de Suelos del Instituto de Ecología, A.C. Sandra Rocha Ortiz, Ninfa Portilla Loeza y Lourdes Cruz Huerta por la realización de los análisis de suelos para este experimento. También les agradezco por brindarme su amistad.

Al personal del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero del Instituto de Ecología, A.C. por facilitarme las instalaciones para realizar el experimento de invernadero, así como su apoyo incondicional en todo momento.

A mi hermana Itzel porque a pesar de mis malos momentos sigue ahí para apoyarme, por darme la dicha de ser tía y por su amistad incondicional.

A la familia Aguirre Lima por brindarme su casa, apoyarme, consentirme, y sobre todo hacerme sentir en todo momento como en casa.

A la M. en C. Damaris Desgarenes por su amistad y palabras de aliento en todo momento, la distancia nunca fue impedimento para brindarme su apoyo.

A la M. en C. Tania Hernández por su apoyo y aportaciones al trabajo, así como su amistad brindada todo este tiempo.

A los chicos del laboratorio, Ing. Agr. Jesús Aguirre, Ing. Agr. Concepción Rodríguez, porque esas horas que compartimos estando en ese pequeño espacio se hicieran amenas y placenteras, por brindarme su amistad y sobre todo su confianza.

Este trabajo es parte de los resultados obtenidos en el proyecto 000000000174936 financiado por el Fondo Sectorial de Innovación (FINNOVA) del CONACyT.

CONTENIDO

Página

Lista de cuadros.....	i
Lista de figuras.....	ii
I. Introducción.....	1
1.1 Importancia de la biota edáfica.....	1
1.2 Importancia del fósforo.....	1
1.3 El fósforo en la agricultura convencional.....	2
II. Revisión de Literatura.....	3
2.1 Hongos solubilizadores de fosfato.....	3
2.2 Hongos nematófagos.....	4
III. Justificación.....	7
IV. Hipótesis.....	8
V. Objetivos.....	8
5.1 Objetivo general.....	8
5.2 Objetivos particulares.....	8
VI. Materiales y Métodos.....	9
6.1 Microorganismos.....	9
6.2 Solubilización de fosfato.....	9
6.2.1 Solubilización en medios sólidos.....	9
6.2.2 Solubilización en medios líquidos.....	11
6.3 Germinación de esporas e interacción entre micelios de hongos nematófagos.....	12
6.3.1 Porcentaje de germinación.....	12
6.3.2 Crecimiento micelial e interacción de los hongos en cultivos duales.....	13
6.4 Experimentos en invernadero.....	15
6.4.1 Cuantificación de nutrimentos del suelo.....	16

6.4.2 Cuantificación de la densidad de población de <i>Globodera rostochiensis</i>	17
6.5 Análisis estadísticos.....	18
VII. Resultados.....	19
7.1 Solubilización de fosfatos <i>in vitro</i>	19
7.1.1 Índice de solubilización de fosfatos de Ca.....	19
7.1.2 Índice de solubilización de fosfatos de Fe.....	20
7.1.3 Solubilización de fosfatos de Ca en medios líquidos.....	21
7.1.4 Solubilización de fosfatos de Fe en medios líquidos.....	23
7.2 Germinación de esporas e interacción entre los micelios de hongos nematófagos.....	25
7.2.1 Porcentaje de germinación.....	25
7.2.2 Crecimiento micelial de hongos nematófagos.....	26
7.2.3 Interacción de hongos nematófagos en cultivos duales.....	27
7.3 Efecto de la aplicación de hongos nematófagos sobre la disponibilidad de fósforo en el suelo y la densidad de nematodos en presencia y ausencia de plantas...	28
7.3.1 Experimento 1: Aplicación de dos hongos nematófagos a suelo sin plantas.....	28
7.3.2 Experimento 2: Aplicación de dos hongos nematófagos a suelo cultivado con <i>Avena sativa</i>	31
VIII. Discusión.....	37
IX. Conclusiones.....	45
X. Literatura citada.....	46
XI. Anexos.....	54
Anexo I Cuadros de datos obtenidos en los experimentos con análisis estadísticos.....	54
Anexo II Artículo enviado a la revista Brazilian Journal of Microbiology.....	64

Lista de cuadros	Página
Cuadro 1 Índice de solubilización de los tres hongos nematófagos en medio sólido con fosfatos de Ca (hidroxiapatita).....	20
Cuadro 2 Índice de solubilización de los tres hongos nematófagos en medio sólido con fosfatos de Fe (estrengita).....	21
Cuadro 3 Cantidad de nutrimentos en el suelo de los tratamientos del experimento 1.....	30
Cuadro 4 Población inicial y final de <i>Globodera rostochiensis</i> en el suelo de los tratamientos del experimento 1.....	31
Cuadro 5 Cantidad de nutrimentos en el suelo de los tratamientos del experimento 2.....	33
Cuadro 6 Población inicial y final de <i>Globodera rostochiensis</i> en el suelo de los tratamientos del experimento 2.....	36
Cuadro 7 Efecto de <i>Geomyces pannorum</i> en la solubilización de fosfatos de calcio (hidroxiapatita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	54
Cuadro 8 Efecto de <i>Paecilomyces carneus</i> en la solubilización de fosfatos de calcio (hidroxiapatita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	55
Cuadro 9 Efecto de <i>Penicillium virgatum</i> en la solubilización de fosfatos de calcio (hidroxiapatita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	56
Cuadro 10 Efecto de <i>Geomyces pannorum</i> en la solubilización de fosfatos de hierro (estrengita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	57
Cuadro 11 Efecto de <i>Pecilomyces carneus</i> en la solubilización de fosfatos de hierro (estrengita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	58
Cuadro 12 Efecto de <i>Penicillium virgatum</i> en la solubilización de fosfatos de hierro (estrengita) y el pH del medio de cultivo liquido pikovskaya modificado.....	59
Cuadro 13 Crecimiento de <i>Geomyces pannorum</i> en diferentes medios de cultivo.....	60
Cuadro 14 Crecimiento de <i>Paecilomyces carneus</i> en diferentes medios de cultivo.....	60
Cuadro 15 Crecimiento de <i>Penicillium virgatum</i> en diferentes medios de cultivo.....	61
Cuadro 16 Humedad del suelo en los tratamientos del experimeto 1 en invernadero.....	61
Cuadro 17 Humedad del suelo en los tratamientos del experimeto 2 en invernadero.....	62
Cuadro 18 Altura de las plantas de avena en los tratamientos del experimento 2 en invernadero.....	62
Cuadro 19 Número de semillas por planta en los tratamientos del experimento 2 en invernadero.....	63

Cuadro 20 Peso fresco y peso seco por planta en los tratamientos del experimento 2 en invernadero.....	63
---	----

Lista de figuras	Página
Figura 1 Tipos de interacciones fúngicas basadas en los criterios de Fakhrunnisa y Ghaffar (2006).....	14
Figura 2 Solubilización de fosfatos de calcio en medio Pikovscaya modificado.....	20
Figura 3 Efecto de los hongos estudiados en la solubilización de P y el pH del medio de cultivo líquido con hidroxipatita.....	23
Figura 4 Efecto de los hongos estudiados en la solubilización de P y el pH del medio de cultivo líquido con estrengita.....	24
Figura 5 Porcentaje de germinación de esporas a las 16 y 24 hrs después de la inoculación.....	25
Figura 6 <i>Geomyces pannorum</i> en diferentes medios de cultivo.....	26
Figura 7 <i>Paecilomyces carneus</i> en diferentes medios de cultivo.....	27
Figura 8 Interacciones en medio de cultivo agar-avena de entre los tres hongos estudiados.....	28
Figura 9 Fósforo disponible en el suelo al final del experimento 1.....	29
Figura 10 Fósforo disponible en el suelo al final del experimento 2.....	32
Figura 11 Desarrollo de las plantas de <i>Avena sativa</i> durante el experimento 2.....	34
Figura 12 Número de semillas en las plantas de <i>Avena sativa</i> al final del experimento 2	35
Figura 13 Peso fresco y peso seco de plantas de <i>Avena sativa</i> en los tratamientos del experimento 2.....	35